

Über die Bedeutung des Nebennierenmarkes
und der Nebennierenrinde
für die Hyaluronidasehemmung

von

ALFRED JANKOWSKI

1957

L 8

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität
München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Über die Bedeutung des Nebennierenmarkes und der Neben-
nierenrinde für die Hyaluronidasehemmung

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Alfred Jankowski

aus
Haag/Obb.

1957

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. W. Bickenbach

Tag der Mündlichen Prüfung: 6. Juni 1957



Inhaltsverzeichnis

Problematik	4
Eigene Untersuchungen	5
Methodik	6
1. Versuchsreihe	9
2. Versuchsreihe	9
3. Versuchsreihe	14
4. Versuchsreihe (Hauptversuch)	14
5. Versuchsreihe	19
Statistische Auswertung	19
Kontrolle der Pupillenweite nach Adrenalingabe	31
Versager	33
Besprechung der Ergebnisse	33
Zusammenfassung	36
Literaturverzeichnis	38

Problematik

In früheren Arbeiten hat H. M a t h i e s ^{53, 54} unter Zugrundelegung der bisherigen Literatur auf die Zusammenhänge zwischen dem therapeutischen Effekt antirheumatischer Behandlungsmethoden und Hyaluronidasehemmung hingewiesen und damit die Hyaluronidasehemmung der Antirheumatica als wichtigen Teilfaktor des therapeutischen Prinzips herausgestellt. Er äußert Zweifel⁵⁴, ob die unter Einwirkung antirheumatischer Mittel (ACTH^{35, 74}, Moor- bzw. Huminsäure^{38, 39, 65} und Schwefelbäder²², Salicylate¹⁴, Goldtherapie⁴⁹, radioaktive Einwirkung¹⁰) gefundene Erhöhung der aus der Nebennierenrinde stammenden 17-Ketosteroide (oder zumindest verschiedener Hormongruppen bei der fraktionierten 17-Ketosteroid-Bestimmung) und der Corticoide unter der Rheuma-Behandlung ein Beweis dafür ist, daß die Nebennierenrindenhormone für das Zustandekommen des antirheumatischen Effektes oder speziell der Hyaluronidasehemmung notwendig sein sollen. Es gibt kaum ein Antirheumaticum, das nicht auf Grund festgestellter oder auch nur vermuteter Veränderungen der Nebennierenrindenhormon-Ausscheidung eine über die Nebennierenrinde laufende oder "cortisonähnliche" Wirkung haben soll.

Neben der überragenden therapeutischen Wirkung der Glucocorticoide und der Feststellung einer erhöhten Nebennierenrindenhormon-Ausscheidung unter anderen antirheumatischen Behandlungsmethoden schienen die Versuchsergebnisse von F e h r e s / T h e o b a l d ²¹ ein Beweis dafür zu sein, daß die Wirksamkeit eines Antirheumaticums an die vermehrte inkretorische Aktivität der Nebennierenrinde gebunden ist. Diese Autoren stellten fest, daß bei adrenaletomierten Ratten die Hemmung des künstlichen Formalinoedems unter in der Rheumatherapie üblichen Substanzen (z.B. Acetylsalicylsäure, Aminopyrin, Pyrazolon-Abkömmlinge) ausbleibt, daß also tatsächlich die Nebenniere für den therapeutischen Effekt - hier am Modell der Formalinentzündung - notwendig ist.

Dem gegenüber stehen von D o m e n j o z ¹⁷ mitgeteilte Befunde von F e h r e s u. Mitarb.²⁰, nach denen bei hypophysektomierten Ratten die Hypophyse nicht für die Hemmung des künstlichen Formalinoedems durch bestimmte Substanzen notwendig ist, obwohl auf der anderen Seite die Hypophyse für den Depletionseffekt, d.h. die Cholesterin- und Ascorbinsäureverarmung der Nebennierenrinde (S a y e r s 'Test), die als Ausdruck der inkretorischen Aktivität der Nebennierenrinde angesehen wird, erforderlich zu sein scheint. (Nur unter ACTH-Zufuhr kommt natürlich auch bei hypophysektomierten Tieren der Depletionseffekt zustande.) Es bestehen also zumindest keine Beziehungen zwischen der innersekretorischen Tätigkeit der Nebennierenrinde und der Hemmung der Permeabilitätsläsion unter der Therapie mit antirheumatisch wirksamen Substanzen. (Bemerkenswert ist hierbei, daß Cortison insofern eine Ausnahme macht, als es seine antiphlogistischen Eigenschaften bei hypophysektomierten Tieren verliert (D o m e n j o z ¹⁷); dieser Befund deckt sich mit der Feststellung von H e r l a n t ³⁷ und S e l y e ⁶⁹, daß die Corticoidwirkung auf die Zellen nur dann erkennbar wird, wenn gleichzeitig ACTH zur Verfügung steht.) M a t h i e s ⁵⁴ hat auf Grund der genannten Feststellungen von D o m e n j o z ¹⁷ und Mitarb. ^{20, 21} die Vermutung ausgesprochen, daß zur Auslösung eines antiphlogistischen oder antirheumatischen Effektes und vielleicht auch einer Hyaluronidasehemmung unter bestimmten Substanzen nicht die Nebennierenrinde sondern das Nebennierenmark notwendig zu sein scheint. Von dieser Ansicht unberührt bleiben vielleicht die Nebennierenrindenhormone selbst, deren therapeutische Effekte möglicherweise auf anderem Wege zustandekommen.

Eigene Untersuchungen

Wir sind deshalb dem Problem der Rolle der beiden Anteile der Nebenniere beim Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung näher nachgegangen. Die getrennte Exstirpation der Nebennierenrinde und des Markes stößt bei den üblichen Laboratoriumstieren naturgemäß auf Schwierigkeiten. Wir haben deshalb nach kurzer

Wiederholung der Versuche von F e h r e s und T h e o b a l d²¹ und F e h r e s u. Mitarb.²⁰ - übertragen auf die Hyaluronidasehemmung und die unten näher beschriebene Untersuchungstechnik - zu klären versucht, ob bei totaladrenalektomierten Tieren die i.v. Zufuhr von Adrenalin als Hormon des Nebennierenmarkes eine Hyaluronidasehemmung hervorruft.

Methodik

Als Kriterium der Hyaluronidasewirkung und ihrer Hemmung bedienten wir uns der Diffusionsgeschwindigkeit einer Farbstoffquaddel mit Evans-Blau bei Ratten (Spreading-Test 3, 4, 7, 34, 42, 50, 51, 58). Es wurden fast ausschließlich männliche Ratten mit einem Gewicht von 150 bis 200 g verwendet. Bei schwereren Tieren erwies sich wegen Verfettung des Nierenlagers die Adrenalektomie als schwieriger, bei kleineren Tieren ließ sich der weiter unten beschriebene Farbstofftest wegen häufiger Überschneidung der Farbstoffquaddel an der kleinen Bauchfläche nicht mit genügender Genauigkeit durchführen. Bei der Auswahl der Tiere wurde ferner deren Gesundheitszustand und Alter berücksichtigt. Obwohl im übrigen Unterschiede in der Verwertbarkeit zwischen männlichen und weiblichen Ratten nicht festgestellt werden konnten, wurden die männlichen deshalb bevorzugt, weil die Enthaarung ihrer glatten Bauchhaut keine Schwierigkeiten bereitet und hierbei Verletzungen der Epidermis vermieden werden.

Die Adrenalektomie ließ sich auf Grund der in den Vorversuchen erarbeiteten Operationstechnik und der hierbei gewonnenen Übung lediglich im Ätherrausch durchführen. Es braucht bei Ratten nicht steril gearbeitet zu werden, jedoch wurde sauber und sehr schonend operiert und zur Wundversorgung MP-Puder verwendet. Das Operationstrauma konnte dadurch auf ein Minimum reduziert und die Vitalität der Versuchstiere für die Zeit der Versuche erhalten werden.

Die adrenalektomierten Tiere wurden 48 Stunden nach der Operation in Versuch genommen, da nach Untersuchungen von K a r g⁴⁴ auf Grund von Messungen des nebennierenbedingten Grundumsatzes und der Ergebnisse des Thorn-Testes in dieser Zeit eine Regeneration von funktionstüchtigem akzessorischem Nebennierenrinden-Gewebe

kaum zu befürchten ist. Innerhalb von 2-4 Tagen nach der Adrenalektomie ist der Corticoid-Gehalt des Blutes abgesunken, der Grundumsatz zeigt sein Minimum und der Thorn-Test ist negativ, ein Wiederanstieg durch etwa regeneriertes akzessorisches Nebennierenrinden-Gewebe tritt erst nach dieser Zeit in Erscheinung. Nach B a c h m a n n ⁵ zeigen 8 % der normalen Ratten mikroskopisch feststellbare akzessorische Rindenknötchen unterschiedlicher Lokalisation, dagegen längere Zeit nach Adrenalektomie 20-25-70 % (je nach Autor, Genauigkeit der Untersuchung und Tierstamm). C a n a l i s ¹³ sah bei Hunden und Kaninchen erst 2 Tage nach Teiladrenalektomie die erste Zunahme der Mitosen.

Es ergab sich in Vorversuchen an etwa 80 Tieren, daß die enthaarte Bauchhaut sowohl für die Injektion der Farbstofflösung als auch für die Ausbreitung und Messung der Quaddel am besten geeignet war. Da das Spreading meist zweiphasisch verläuft und lediglich die innerhalb der ersten zehn Minuten ablaufende Reaktion sicher ein echter Effekt der angewandten Hyaluronidase ist (M a d i n a v e i t i a ⁵⁰), was besonders bei älteren Arbeiten nicht genügend beachtet worden ist, schieden zwangsläufig alle Methoden aus, die eine sofortige und kontinuierliche Kontrolle und Messung der gesetzten Farbstoffquaddeln innerhalb der ersten zehn Minuten nicht erlaubten, z.B. die von manchen Autoren vorgeschlagene Enthäutung der getöteten Tiere und Betrachtung der Farbstoffausbreitung an der Hautunterseite (H u m p h r e y ⁴²).

Die durch Hyaluronidase verstärkte aktive Diffusion einer intra- oder subcutan gesetzten Quaddel beruht nach G i b b i a n ²⁶ auf dem Druck, den das Flüssigkeitsdepot auf seine Umgebung ausübt, zumindest im Verlauf der ersten zehn Minuten. Im weiteren Verlauf dürften Resorptionsmechanismen im Vordergrund stehen. Es hat sich auch gezeigt, daß die Regelmäßigkeit der Kontur des Farbfleckes nach dieser Zeit abnimmt und dann offenbar durch Gewebsstrukturen bedingte zungenförmige Ausläufer eine sichere Abgrenzung nicht mehr ermöglichen.

Die Farbquaddeln wurden mit einer scharfen, dünnen Kanüle (Nr. 20) streng intracutan in die an der Injektionsstelle durch

Spannung fixierte Bauchhaut gesetzt. Eine möglichst genaue Injektion von nur 0,1 ccm Flüssigkeit mit einer 1 ccm Record-Spritze und die anschließende Messung der Ausbreitung des Farbstofffleckes wurde nur bei völliger Ruhe des Tieres erreicht. Zu diesem Zweck wurde das Tier durch subkutane Injektion einer frischen 10 %igen Evipan-Natrium-Lösung narkotisiert, wobei 15 mg Evipan-Natrium pro 100 g Tier zur optimalen Narkosetiefe führten. Bei sich über mehrere Stunden erstreckenden Versuchen wurde Evipan-Natrium und Luminal-Natrium zu gleichen Teilen und in gleicher Menge verabfolgt. Ein störender Einfluß von Barbiturat auf die Aktivität der Hyaluronidase besteht nicht, wie aus entsprechenden Untersuchungen von W i l h e l m i⁸⁰ hervorgeht. Als Farbstoff wurde Evans-Blau verwendet, das mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 % der Stammlösung verdünnt wurde. Stärkere Konzentrationen bedingten eine in zu engen Grenzen verbleibende Ausbreitung der Quaddel, bei schwächeren Lösungen waren der Kontrast zur rötlichen Bauchhaut und somit auch die Genauigkeit der Ablesung ungenügend.

Bei Verwendung von Hyaluronidase (Kinetin) wurde eine Trockenampulle, enthaltend 10 Schering-Einheiten = 150 I.E. in 2 ccm der 1 %igen Farbstofflösung gelöst, so daß bei der Injektion von 0,1 ccm 0,5 Schering-Einheiten zur Wirkung kamen.

Soweit die Größe der Bauchfläche eine Überschneidung nicht befürchten ließ, wurden stets zwei Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln gesetzt und deren Mittelwert verwertet. Die Injektion der Vergleichsquaddeln erfolgte stets an symmetrischen Stellen. Zur Messung wurde die Kontur der Quaddeln, welche 1-2 Minuten noch prominent waren, dann aber als Flecke im Niveau der Haut diffundierten, auf einen über sie leicht aufgedrückten, durchsichtigen Zelluloidstreifen übertragen und später auf Papier kopiert, der Flächeninhalt planimetrisch bestimmt. Die Ablesung wurde im allgemeinen regelmäßig nach der 1., 2., 4., 6., 8. und 10. Minute post injektionem vorgenommen. Mit Rücksicht auf die angestrebte Genauigkeit der Methodik wurde nicht abgelesen, wenn die Abgrenzung nicht einwandfrei möglich war, oder wenn das Tier einer näheren Überwachung bedurfte (z.B. Narkosezwischenfälle).

1. Versuchsreihe

Zum Vergleich unserer Methodik mit den von D o m e n j o z ¹⁷ u. Mitarb. ^{20, 21} mitgeteilten Befunden am Formalinoedem wurde bei 10 nicht adrenalektomierten Tieren - im Folgenden "Normaltiere" genannt - zunächst eine reine Farbstoffquaddel, danach eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel injiziert und deren Ausbreitung gemessen. Sodann erhielten die Tiere 50 mg Acetylsalicylsäure pro 100 g Tier subkutan verabfolgt. Wegen der geringen Löslichkeit der Acetylsalicylsäure wurde bei der Herstellung der Injektionslösung 1 % Natr. bicarbonic. beigegeben (T h e o b a l d ⁷⁶). 40 Minuten nach der Acetylsalicylsäureinjektion wurde erneut eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt und ebenfalls deren Ausbreitung gemessen. Verwertet wurde als Endwert der Flächeninhalt des Farbstofffleckes nach Ablauf von 10 Minuten. Die Auswertung ergibt eine Hemmung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gegenüber der reinen Farbstoffquaddel von 35 % (Tab. 1, Abb. 1). Diese Ergebnisse stimmen insofern nicht mit den Befunden von D e w e s ¹⁶ überein, als dieser am experimentellen Hyaluronidaseoedem - im Gegensatz zu T h e o b a l d ⁷⁶ am Formalinoedem - der Rattenpfote unter Acetylsalicylsäure keine signifikante Hemmung feststellen konnte. Auf der anderen Seite überrascht uns unser Ergebnis nicht, da es unseren Vorstellungen von der Wirkung antirheumatisch wirksamer Substanzen entspricht und auch die Acetylsalicylsäure bei den Versuchen von D e w e s ¹⁶ am Hyaluronidaseoedem gegenüber den anderen sonst hyaluronidasehemmenden Stoffen eine unerklärliche Ausnahme darstellt.

2. Versuchsreihe

Es erhielten 7 adrenalektomierte Tiere bei sonst gleicher Versuchsanordnung wie bei der 1. Versuchsreihe Acetylsalicylsäure. Hier konnte eine Hyaluronidasehemmung 40 Minuten nach Acetylsalicylsäuregabe nicht festgestellt werden, es resultierte sogar eine geringe nicht signifikante Förderung der Hyaluronidasewirkung von 15 %, ein Wert, der im Bereich der Fehlerbreite der Methodik liegt. Dieses Ergebnis zeigt in Übereinstimmung mit den Versuchen am Formalinoedem von F e h r e s / T h e o b a l d ²¹, daß bei adrenalektomierten Tieren unter Acetylsalicylsäure eine Hyaluronidasehemmung nicht zustandekommt (Tab. 2, Abb. 2).

Normaltier

Farbstoffquaddel						
	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	88	100	124	144	148	-
2	104	116	136	152	156	-
3	80	104	108	132	144	156
4	80	88	104	112	116	120
5	92	112	116	124	132	140
6	76	100	112	116	122	128
7	84	104	128	132	140	156
8	96	100	106	116	122	132
9	76	92	112	-	128	148
10	84	104	128	136	148	152
m	86	102	117	129	136	141
s ²	83	68	171	232	122	268
s	9,11	13,08	11,05	15,23	16,37	

Farbstoff-Hyaluronidasequaddel

	v o r						40 Min. n a c h					
	Acetylsalicylsäure						Acetylsalicylsäure					
	1'	2'	4'	6'	8'	10'	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	-	-	-	-	-	-	-	156	172	186	197	214
2	132	156	176	204	214	222	100	126	156	180	182	208
3	130	153	171	184	194	212	112	130	146	170	172	180
4	128	156	214	244	274	316	144	167	200	220	222	254
5	138	148	164	196	202	210	-	128	140	148	152	172
6	152	167	193	208	220	250	124	144	166	191	188	191
7	120	142	160	168	200	234	106	120	143	149	157	168
8	107	164	184	203	220	233	131	-	165	-	-	-
9	130	160	203	224	232	250	124	152	174	199	220	252
10	-	-	-	-	240	272	-	-	-	-	-	240
m	129	155	183	204	222	244	120	140	162	180	186	208
s ²	262	200	390	503	553	1207	252	343	437	678	737	1442
s	16,19	19,75	23,51	34,74	15,87	20,90	27,15	14,14	22,42	37,97		
t _{Diff}					1,43	1,82	2,11	2,03	2,94	1,92		

Hemmung der Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
nach der Acetylsalicylsäure-Injektion in %

35%

Tab. 1

Normaltier

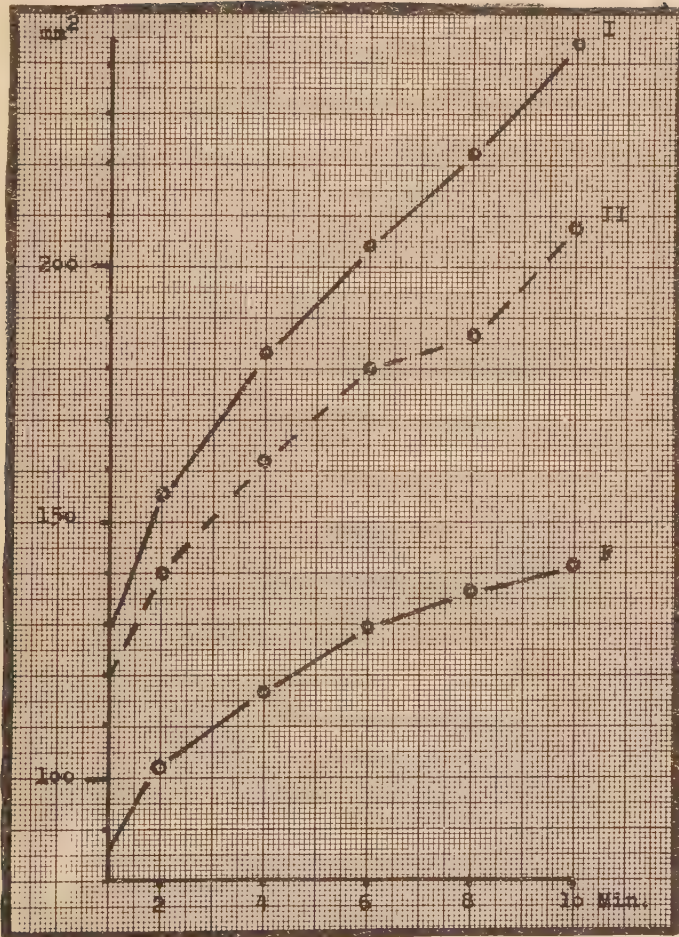


Abb. 1

Zeichenerklärung:

- F = Farbstoffquaddel
- I = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
v o r Acetylsalicylsäure-Injektion
- II = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
40 Min. n a c h Acetylsalicylsäure-
Injektion

A d r e n a l e k t . T i e r

Farbstoffquaddel						
	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	80	88	120	120	136	148
2	98	100	128	132	136	160
3	88	100	128	136	148	148
4	80	92	116	-	-	136
5	96	104	128	136	140	148
6	80	88	100	108	120	124
7	100	128	136	144	144	160
m	88	100	122	128	137	146
s ²	69	192	179	222	149	213
s	8,1 ³	13,86 ¹³	38 ^{13,38}	14,90 ¹²	21 ^{12,21}	14,59

Farbstoff-Hyaluronidasequaddel												
	v o r						40 Min. n a c h					
	Acetylsalicylsäure						Acetylsalicylsäure					
	1'	2'	4'	6'	8'	10'	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	104	123	140	160	198	240	102	122	168	170	200	216
2	95	112	148	150	184	178	93	128	164	208	211	246
3	122	140	164	187	220	242	120	170	216	224	240	246
4	124	140	170	214	228	256	158	168	200	217	228	280
5	106	-	140	164	195	210	130	160	190	220	239	244
6	136	156	222	240	248	280	120	146	188	220	238	266
7	132	152	172	200	-	216	120	137	161	191	211	217
m	117	137	165	188	212	232	120	147	183	207	224	245
s ²	239	312	838	1023	619	1039	493	420	714	427	230	549
s	15,45	28,95	24,87	22,20	26,72	15,10	17,66	32,00	32,23	20,49	20,66	23,43
t _{Diff}							-0,29	-1,21	-1,06	-0,82		
							-0,85	-1,32	-1,06	-0,82		
Hemmung der Farbstoff-Hyaluronidasequaddel nach der Acetylsalicylsäure-Injektion in %												
-15%												

Adrenalekt. Tier

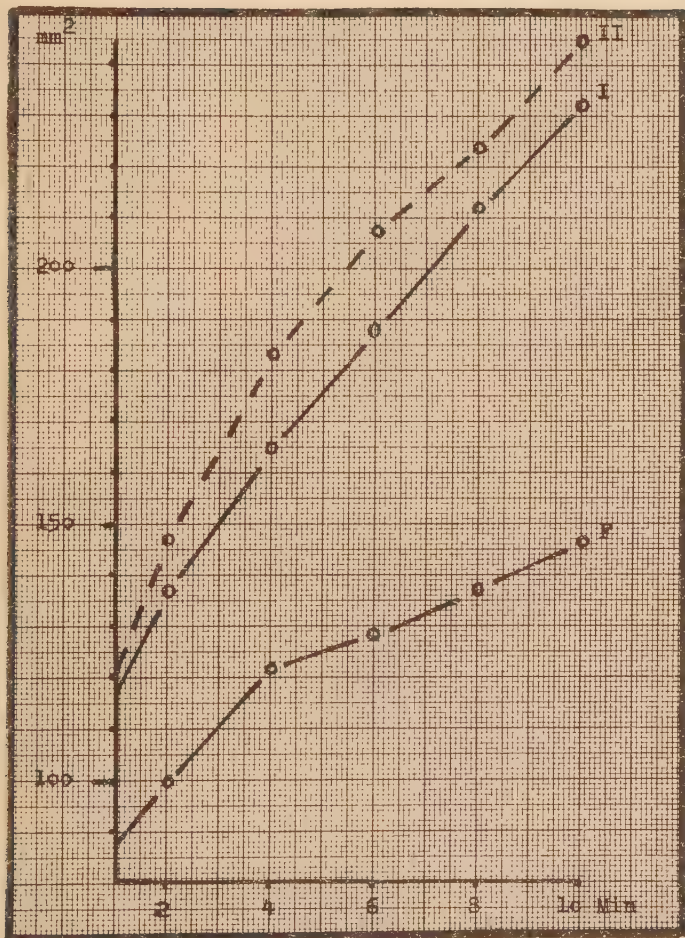


Abb. 2

Zeichenerklärung:

- F = Farbstoffquaddel
- I = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
v o r Acetylsalicylsäure-Injektion
- II = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
40 Min. n a c h Acetylsalicylsäure-Injektion

3. Versuchsreihe

Diese Versuchsreihe wurde mit 4 parapharyngeal hypophysektomierten Ratten unter Acetylsalicylsäurewirkung durchgeführt. Der Erfolg der Hypophysektomie wurde histologisch gesichert. Die Versuchsanordnung war sonst die gleiche wie bei der 1. Versuchsreihe. Die Auswertung der Versuche zeigte eine Hemmung der 40 Minuten nach Acetylsalicylsäure gesetzten Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gegenüber der reinen Farbstoffquaddel im 10-Minuten-Wert von 55 % (Tab. 3; da hier nur die 10-Minuten-Werte festgelegt wurden, erübrigt sich eine Kurvendarstellung). Diese allerdings nur an 4 Tieren durchgeführten Versuche scheinen ebenfalls die von F e h r e s u. Mitarb.²⁰ bei der Hemmung des Formalinoedems gefundenen Ergebnisse zu bestätigen, daß trotz fehlender Hypophyse und damit auch fehlender innersekretorischer Aktivität der Nebennierenrinde doch eine Hyaluronidasehemmung durch Acetylsalicylsäure zustande kommt.

4. Versuchsreihe (Hauptversuch)

65 adrenaletomierten Tieren wurde nach der üblichen Injektion und Auswertung der Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel 6 μ /100 g Körpergewicht Adrenalin i.v. verabfolgt. Die Injektion erfolgte in die Schwanzvene oder in die durch einen kleinen Hautschnitt freigelegte Femoralvene. Eine Höchstmenge von 12 μ Adrenalin/100 g Rattengewicht ergab sich aus Untersuchungen von K a r g⁴³, der bei Normaltieren eine Ausschüttung aus beiden Nebennieren zusammen in dieser Höhe unter Insulin messen konnte. Signifikante Unterschiede unserer Ergebnisse zwischen einer Gabe von 6 μ und 12 μ konnten wir in Vorversuchen nicht feststellen, weshalb wegen der besseren Verträglichkeit im Folgenden 6 μ verabfolgt wurden. Die Injektion des Adrenalins ist ohnehin wegen der Gefahr eines fast immer tödlichen Lungen-oedems nur sehr langsam vorzunehmen.

Die zweiten Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln wurden in verschiedenen Abständen nach der Adrenalin-Injektion gesetzt und eine Einteilung in 4 Untergruppen vorgenommen:

- a) sofort nach Adrenalininjektion (12 Tiere)
- b) 30 - 60 Minuten nach Adrenalininjektion (43 Tiere)
- c) 60 - 105 Minuten nach Adrenalininjektion (8 Tiere)
- d) 105 - 180 Minuten nach Adrenalininjektion (12 Tiere)

Hypophysekt. Tier

	Farbstoff- quaddel	Farbstoff-Hyaluroni- dasequaddel	
		v o r Acetylsali- cylsäure	40 Min. n a c h Acetylsali- cylsäure
	10'	10'	10'
1	120	216	156
2	100	220	184
3	116	184	140
4	140	220	196
m	119	210	169
s ²	271	244	655
s	16,46	15,62	25,59
t _{Diff}	2,74		
Hemmung der Farbstoff-Hyalu- ronidasequaddel nach der Ace- tylsalicylsäure-Injektion in %			
			55%

Tab. 3

Adrenalekt. Tier

	Farbstoffquaddel					
	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	72	92	112	132	138	148
2	80	88	120	136	140	144
3	76	100	108	124	130	136
4	80	102	108	128	136	144
5	88	100	128	136	148	152
6	100	128	136	160	176	180
7	92	100	120	128	132	140
8	80	88	120	136	140	152
9	-	104	124	132	144	-
10	68	72	88	-	110	-
11	100	128	136	142	152	160
12	96	100	120	136	144	148
m	85	100	118	135	141	150
g2	99	266	219	159	153	265
s	9,95	14,80	12,37	16,31	12,61	16,28

Farbstoff-Hyaluronidasequaddel

	v o r Adrenalin						0 Min. n a c h Adrenalin					
	1'	2'	4'	6'	8'	10'	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	154	167	183	220	-	-	-	128	132	162	168	188
2	104	120	-	205	234	-	-	146	172	184	200	210
3	-	-	144	163	174	-	-	-	143	163	174	-
4	116	-	-	-	-	188	92	140	165	-	174	180
5	-	-	140	-	-	180	-	150	-	160	168	-
6	124	148	176	212	216	224	134	152	160	180	188	216
7	112	150	184	208	230	230	128	157	184	197	224	240
8	134	154	182	188	200	210	140	160	168	-	200	220

Tab. 4

A d r e n a l e k t . T i e r
(Fortsetzung)

Farbstoff-Hyaluronidasequaddel

	v o r Adrenalin						0 Min. n a c h Adrenalin					
	1'	2'	4'	6'	8'	10'	1'	2'	4'	6'	8'	10'
9	114	124	164	176	180	214	120	150	164	184	200	216
10	117	124	157	171	184	210	120	140	160	180	188	200
11	141	169	203	211	221	244	148	178	220	240	280	288
12	116	-	180	200	-	260	112	132	160	180	188	220
m	123	144	171	195	204	216	124	148	166	183	196	218
s ²	261	480	446	550	761	1074	302	416	441	538	965	855
s	16,16	21,54	27,51	32,77			17,38	21,00	23,19	30,90		
		21,91	23,45					20,40				29,24
t _{Diff}							-0,41	-0,41	0,54	0,76	0,59	-0,14
Hemmung der Farbstoff-Hyaluronidasequaddel nach der Adrenalininjektion in %												-3%

Tab. 4 (Forts.)

Adrenalekt. Tier

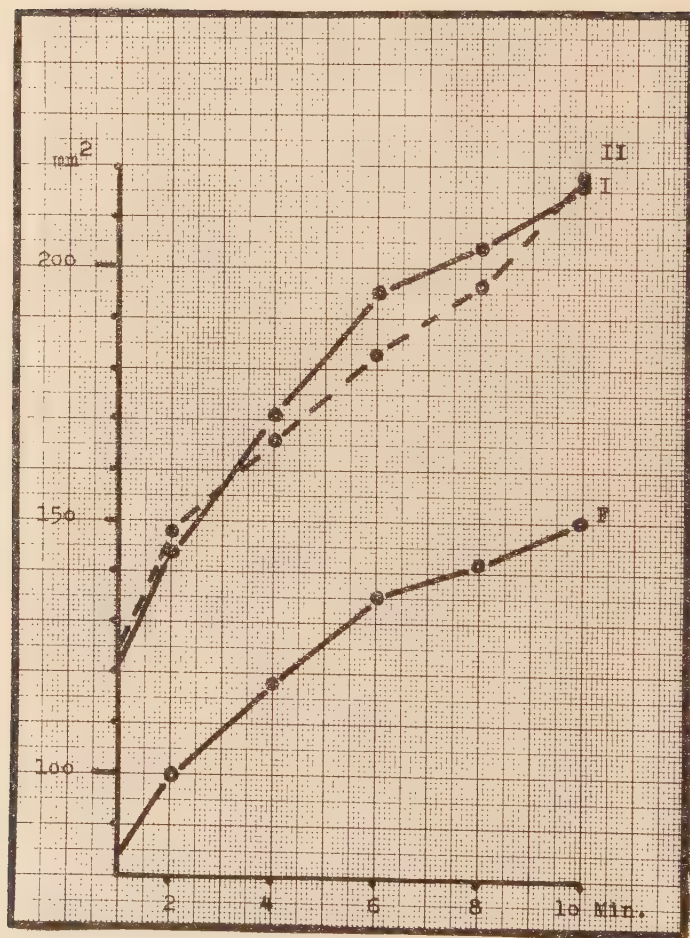


Abb. 3

Zeichenerklärung:

- F = Farbstoffquaddel
- I = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
v o r Adrenalin-Injektion
- II = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
0 Min. n a c h Adrenalin-In-
jektion

- a) Die Versuchsergebnisse (Tab. 4, Abb. 3) zeigen, daß sofort nach Adrenalininjektion eine Hyaluronidasehemmung mit -3% noch nicht vorhanden ist, obwohl bei einer i.v.-Injektion von Adrenalin die Adrenalinwirkung bereits vorliegt, wie Verlaufskontrollen der Pupillenweite zeigten.
- b) Wird die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel 30 - 60 Minuten nach der Adrenalininjektion gesetzt, so ergibt sich eine Hemmung von 41 % bei einer signifikanten Differenz von 4,45 (Tab. 5, Abb. 4. Um ein Beispiel von der Größenordnung zu geben, in der sich die Hemmung der Farbstoffausbreitung abspielt, sei auf die Abb. 5 verwiesen). Zu diesem Zeitpunkt ist die Adrenalinwirkung bereits abgeklungen, wie sich aus einer fortlaufenden Registrierung der Pupillenweite ergab.
- c) Der Grad der Hemmung ist 60 - 105 Minuten nach Adrenalininjektion mit 27 % wieder geringer als nach dem offenbar optimalen Zeitabstand von 30 - 60 Minuten (Tab. 6, Abb. 6).
- d) 105 - 180 Minuten nach Adrenalininjektion ist der hyaluronidasehemmende Effekt im 10-Minuten-Wert mit 2,4 % nicht mehr nachweisbar (Tab. 7).

5. Versuchsreihe

Abschließend wurde vergleichend einer Gruppe von 10 Normaltieren 6 μ g Adrenalin/100 g injiziert. Der Vergleich der 40 Minuten nach Adrenalininjektion gesetzten Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel mit den Quaddeln vor der Adrenalinapplikation ergab eine Hemmung von 35 % (Tab. 8, Abb. 7). Dieser Wert deckt sich mit den bei Normaltieren unter Acetylsalicylsäure gefundenen Werten. Die gegenüber den adrenaletomierten Tieren unter Adrenalin (Versuchsreihe 4b) um 6 % geringere Hemmung ist als im Bereich der Fehlerbreite liegend zu betrachten.

Statistische Auswertung

Bei der Errechnung der prozentualen Hemmung der Hyaluronidase wurde der Flächeninhalt des reinen Farbstofffleckes 10 Minuten nach intracutaner Injektion mit 100 % angegeben. (Eine theoretische Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel mit 100%iger Hemmung der Hyaluronidase hätte die gleiche Größe). Der Flächeninhalt der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel ohne Einfluß eines hyaluronidasehemmenden Faktors entspricht damit einer 0%igen Hemmung. Unter Zugrundelegung dieser beiden Festpunkte wurde die

A d r e n a l e k t . T i e r

Farbstoffquaddel

	1'	2'	4'	6'	8'	10'		1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	72	92	112	132	138	148	22	-	76	88	104	108	112
2	80	88	120	136	140	144	23	64	72	88	108	-	-
3	76	100	108	124	130	136	24	-	100	-	106	136	148
4	-	-	-	-	-	152	25	76	100	112	116	118	120
5	95	104	112	124	138	144	26	60	80	108	124	144	160
6	108	124	128	138	144	156	27	80	92	112	-	136	-
7	-	-	114	128	138	-	28	80	100	122	116	128	148
8	82	96	108	120	130	144	29	80	108	120	120	132	-
9	80	102	108	128	136	144	30	84	104	132	148	156	172
10	88	100	128	136	148	152	31	80	96	112	112	120	136
11	-	-	-	-	-	-	32	100	120	128	148	164	168
12	-	-	-	-	-	-	33	88	100	108	128	144	156
13	-	-	-	-	-	-	34	100	104	104	120	128	-
14	-	-	-	-	-	-	35	96	104	124	136	140	144
15	-	-	-	-	-	-	36	100	108	116	120	138	146
16	68	80	100	104	120	-	37	-	-	124	130	138	140
17	84	-	96	108	112	124	38	80	100	104	128	140	152
18	68	100	114	120	128	132	39	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	40	68	-	100	106	116	128
20	68	72	80	92	96	112	41	104	120	128	144	156	-
21	70	80	94	112	128	-	42	92	116	120	128	134	140
							43	-	-	-	-	-	144
							m	82	98	111	122	133	143
							s ²	157	178	157	249	251	200
							s	12,53	12,53	15,84			
								13,34	15,78	14,14			

Tab. 5

A d r e n a l e k t . T i e r

(Fortsetzung)

Farbstoff-Hyaluronidasequaddel

	v o r Adrenalin						30-60 Min. n a c h Adrenalin					
	1'	2'	4'	6'	8'	10'	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	154	167	183	220	-	-	108	-	140	-	160	-
2	104	120	-	205	234	-	-	-	132	176	-	196
3	-	-	144	163	174	-	125	-	140	155	178	196
4	-	159	-	-	200	217	100	117	143	-	160	176
5	108	114	-	-	172	176	108	118	-	-	165	176
6	-	125	-	178	-	200	-	124	130	142	154	158
7	110	118	157	168	163	162	129	140	-	162	-	-
8	140	-	-	152	-	172	-	140	-	156	170	184
9	116	-	-	-	-	188	-	124	130	148	164	162
10	-	-	140	-	-	180	-	-	140	143	155	166
11	-	136	166	190	190	200	-	98	118	130	141	146
12	-	116	164	172	200	200	-	118	132	148	155	162
13	-	-	160	178	188	198	-	-	-	154	164	168
14	-	152	170	170	-	230	-	128	142	156	-	-
15	-	178	196	216	-	-	-	156	178	211	211	214
16	82	112	144	150	172	192	80	100	124	136	140	152
17	148	168	192	206	228	236	-	100	120	140	148	172
18	102	132	143	166	176	186	108	112	124	148	152	168
19	-	132	156	181	188	200	-	108	120	154	170	160
20	120	144	172	184	192	202	84	110	118	146	156	156
21	116	142	166	190	206	180	88	100	132	160	-	172
22	94	110	132	136	158	180	74	82	111	110	130	-
23	98	115	150	164	176	183	116	120	129	145	-	160
24	160	168	172	192	216	221	118	126	-	-	157	169
25	124	150	172	178	198	208	110	142	-	162	168	176
26	124	154	170	182	196	228	112	124	162	162	175	204
27	136	156	182	202	224	240	136	146	150	164	172	176
28	118	164	182	200	200	218	128	140	152	156	164	178
29	144	180	206	212	236	244	120	152	168	186	192	210
30	160	184	216	-	-	244	134	172	186	-	196	212

Adrenalekt. Tier

(Fortsetzung)

Farbstoff-Hyaluronidasequaddel

	v o r Adrenalin						30-60 Min. n a c h Adrenalin					
	1'	2'	4'	6'	8'	10'	1'	2'	4'	6'	8'	10'
31	118	144	186	214	240	274	124	136	160	170	-	196
32	112	150	184	208	230	230	124	156	180	196	228	246
33	148	172	220	248	248	278	172	180	204	232	248	244
34	114	124	164	176	180	214	117	139	157	168	185	205
35	117	124	157	171	184	210	100	117	135	156	164	167
36	141	169	203	211	221	244	136	144	168	180	200	206
37	120	140	212	226	240	264	120	140	160	168	176	184
38	120	144	172	188	190	200	120	128	148	156	164	180
39	100	113	135	143	155	170	104	128	132	148	152	160
40	122	147	168	170	184	204	120	127	132	156	181	190
41	118	142	200	220	230	254	120	-	174	196	205	-
42	114	142	166	190	208	236	112	130	158	164	184	188
43	-	-	-	-	-	260	-	-	-	-	-	240
m	122	143	172	187	199	213	115	128	145	161	172	183
s ²	332	525	574	644	819	999	354	486	523	401	558	668
s	18,22	23,96	28,62	31,61	22,91	25,38	18,81	22,87	22,04	23,62	20,02	25,85
cDiff							1,49	2,85	4,90	4,89	4,26	4,45
Hemmung der Farbstoff-Hyaluronidasequaddel nach der Adrenalininjektion in %												41%

Tab. 5 (Forts.)

Adrenalekt. Tier

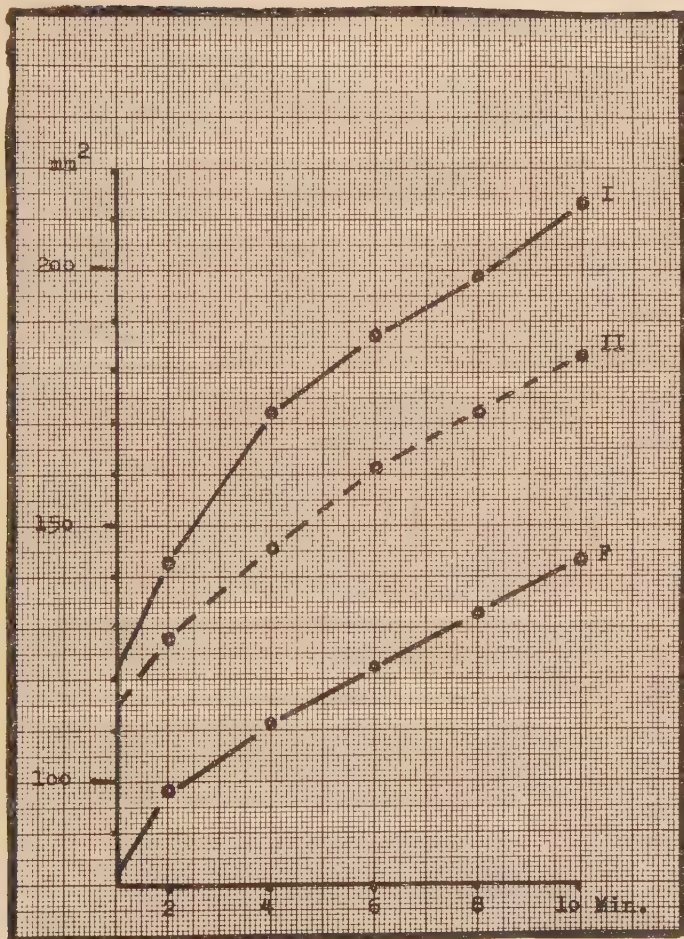


Abb. 4

Zeichenerklärung:

- F = Farbstoffquaddel
- I = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
v o r Adrenalin-Injektion
- II = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
30-60 Min. n a c h Adrenalin-
Injektion



II



I



1'

2'

4'

6'

8'

10'

Zu Abb. 5

Beispiel für die Ausbreitung einer Farbstoffquaddel (F) sowie eines Farbstoff-Hyaluronidasequaddelpaares v o r (I) und 40 Min. n a c h (II) Adrenalininjektion bei einem adrenaletomierten Tier. Zur Verdeutlichung ist die Kontur der Quaddeln bzw. Flecke in der Abb. stärker gezeichnet worden.

A d r e n a l e k t . T i e r

Farbstoffquaddel						
	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	116	-	124	136	140	152
2	80	96	104	116	128	144
3	68	100	114	120	128	132
4	60	80	108	124	144	160
5	72	92	116	120	120	-
6	80	92	112	-	136	-
7	80	92	120	-	-	128
8	96	100	120	136	144	148
m	81	93	115	125	134	144
s ²	352	62	12	125	129	147
s	18,76	7,87	3,46	11,18	11,36	12,12

Farbstoff-Hyaluronidasequaddel												
	v o r Adrenalin						60-105 Min. n a c h Adren.					
	1'	2'	4'	6'	8'	10'	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	116	-	-	-	-	188	112	128	-	144	150	-
2	-	124	168	-	-	172	-	140	154	174	184	182
3	102	132	143	166	176	186	120	120	144	160	-	168
4	124	154	170	182	196	228	124	152	156	160	200	240
5	132	190	214	228	-	236	130	149	170	179	187	190
6	136	156	182	202	224	240	128	140	176	200	-	-
7	-	-	-	-	-	244	143	165	184	203	218	224
8	116	-	180	200	-	260	120	130	151	164	179	189
m	121	151	176	196	197	219	125	140	162	172	186	199
s ²	153	699	572	445	732	1114	138	293	588	616	588	708
s	12,37	26,44	23,92	21,09	27,06	33,37	11,75	17,12	24,25	24,82	24,25	26,61

^tDiff -0,60 0,86 1,04 1,79 0,61 1,26

Hemmung der Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
nach der Adrenalininjektion in %

27%

Adrenalekt. Tier

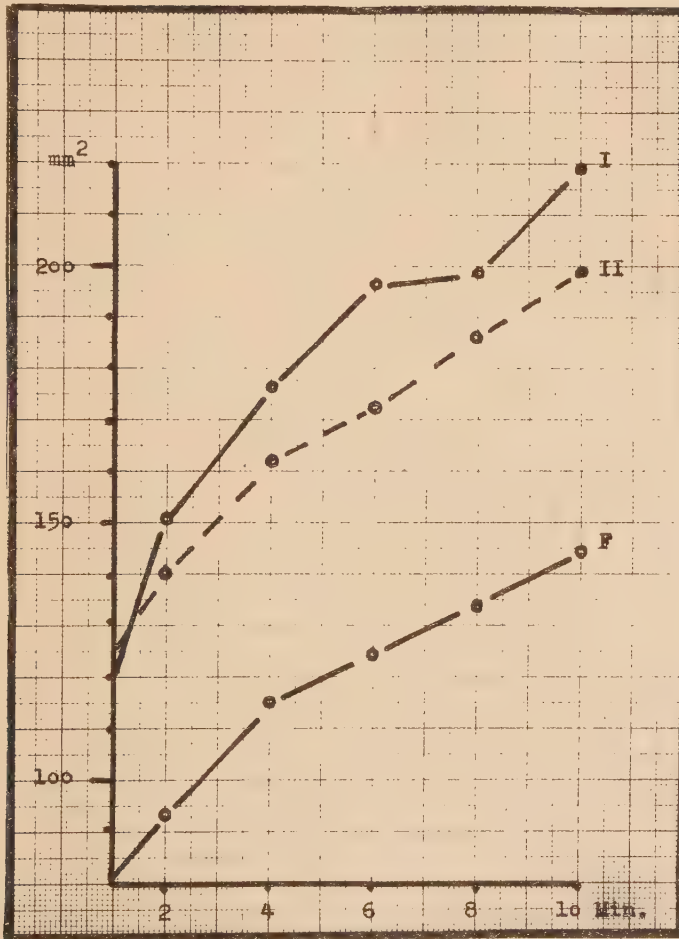


Abb. 6

Zeichenerklärung:

- F = Farbstoffquaddel
- I = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
v o r Adrenalin-Injektion
- II = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
60-105 Min. n a c h Adrenalin-
Injektion

A d r e n a l e k t . T i e r

	Farbstoff- quaddel	Farbstoff-Hyaluroni- dasequaddel	
		v o r Adrenalin	105'-180' n a c h Adrenalin
	10'	10'	10'
1	132	236	224
2	148	234	240
3	124	208	216
4	136	250	228
5	160	260	240
6	120	188	180
7	112	184	184
8	132	248	244
9	146	200	228
10	152	204	184
11	128	212	220
12	-	172	174
13	140	280	280
m	136	221	218
s ²	172	1122	955
a	13,11	33,49	30,90
t _{Diff}		0,27	
Hemmung der Farbstoff- Hyaluronidasequaddel nach der Adrenalininjektion in %			2,4%

Tab. 7

Normal tier

	Farbstoffquaddel					
	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	80	98	116	116	124	140
2	72	92	116	120	120	-
3	84	104	132	148	156	172
4	88	96	124	132	144	152
5	78	98	110	118	122	128
6	80	92	112	120	128	136
7	108	120	136	144	148	-
8	92	116	122	128	140	144
9	88	-	98	106	116	128
10	96	100	120	132	140	144
m	85	102	119	126	134	143
s ²	103	74	66	235	154	205
s	10,15	8,12		12,44		
		8,60		15,33		14,32

Farbstoff-Hyaluronidasequaddel

	v o r Adrenalin						40 Min. n a c h Adrenalin					
	1'	2'	4'	6'	8'	10'	1'	2'	4'	6'	8'	10'
1	116	150	185	221	238	243	108	130	148	164	176	190
2	132	156	194	226	250	274	120	138	152	150	184	202
3	106	146	168	216	246	260	120	145	180	198	210	220
4	134	152	177	200	232	252	156	168	190	204	212	220
5	150	168	182	204	228	234	132	154	180	184	188	206
6	136	158	178	206	220	244	128	156	168	176	194	200
7	108	142	176	192	214	232	126	150	166	176	176	194
8	112	154	180	192	196	-	124	152	164	174	192	222
9	130	170	214	-	-	232	108	124	160	190	212	220
10	132	164	184	210	228	236	120	138	170	195	214	220
m	126	156	184	207	228	245	124	145	168	182	196	209
s ²	149	84	117	248	176	421	213	255	131	234	285	246
s	12,20	10,83		16,61			14,59	11,44		19,62		
		9,17		15,75		20,54		15,96		15,30		15,68
t _{Diff}							0,33	1,89	4,45	3,51	3,81	4,36

Hemmung der Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
nach der Adrenalininjektion in %

35%

Normal tier

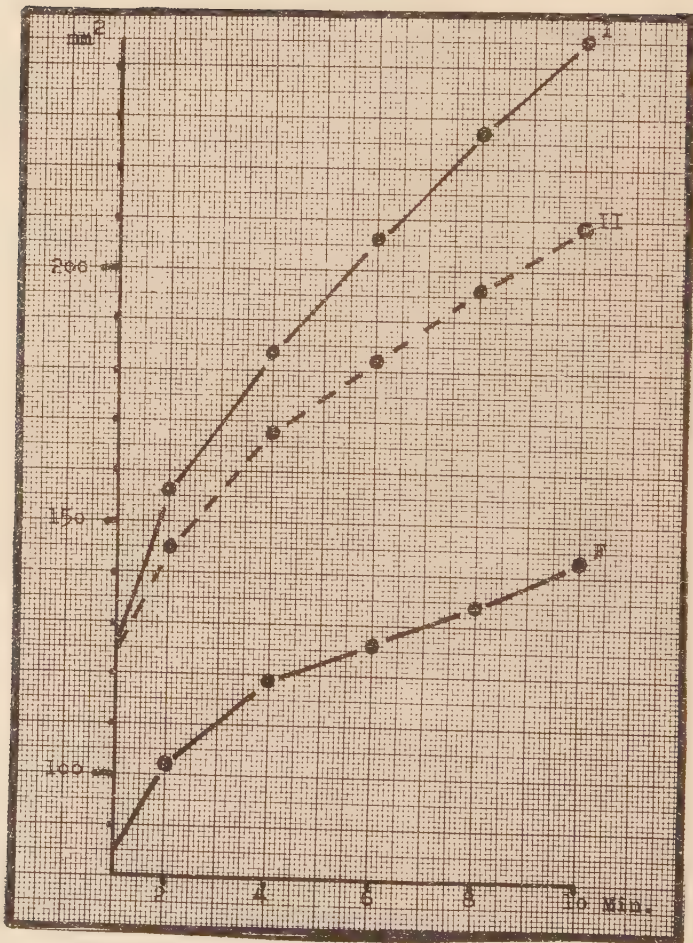


Abb. 7

Zeichenerklärung:

- F = Farbstoffquaddel
- I = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
v o r Adrenalin-Injektion
- II = Farbstoff-Hyaluronidasequaddel
40 Min. n a c h Adrenalin-
Injektion

Hyaluronidasehemmung durch Acetylsalicylsäure bzw. Adrenalin aus dem resultierenden Flächeninhalt der entsprechenden Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel in Prozenten errechnet. Hierdurch ergeben sich Vergleichsmöglichkeiten mit den Auswertungen der beschriebenen Versuche von D o m e n j o z ¹⁷ u. Mitarb. ^{20, 21}

Die statistische Auswertung wurde nach den untenstehenden Formeln vorgenommen. Dabei wurde die signifikante Differenz durch statistischen Vergleich des Flächeninhaltes der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln ohne und nach Einwirkung der hyaluronidasehemmenden Substanzen angegeben.

Kontrolle der Pupillenweite nach Adrenalingabe

Die Kontrolle und Registrierung der Pupillenweite der Tiere erfolgte, soweit es die kurzen Zeitspannen zwischen den Ablesungen der Quaddeln und auch die regelmäßige Überwachung des narkotisierten Tieres erlaubten, unmittelbar nach der Adrenalininjektion und weiter in regelmäßigen Intervallen, und zwar mit unbewaffnetem Auge und nach Schätzung. Auf Feststellung der genauen Pupillenweite wurde verzichtet, da die Schätzung nur der allgemeinen Orientierung dienen sollte. Der Ausgangswert bei allen Tieren war klein bis mittelgroß und betrug höchstens etwa 2 mm.

Unter der Adrenalininjektion trat bei dem weitaus überwiegenden Teil der Tiere eine ausgesprochene, oft ans Extreme grenzende Erweiterung auf, welche innerhalb weniger Minuten nach Beendigung der Adrenalininjektion auf Mittelwerte zurückging. Sodann trat eine weitere Verengung nur zögernd ein, so daß der Ausgangswert erst nach einem Mittel von 30 - 40 Minuten erreicht oder unterschritten war.

Da Adrenalin in Stressdosen zur Anwendung kam und wegen der Gefahr eines tödlichen Lungenödems nicht schneller als 2-3 pro Minute injiziert werden durfte, wodurch der sympathicomimetische Impuls mehrere Minuten anhielt, konnte naturgemäß erst vom Zeitpunkt der Beendigung der Adrenalininjektion an die Messung vorgenommen werden. Einige wenige Tiere zeigten eine Ausnahme, indem die Pupille auch nach einer längeren Zeitspanne - in einem Fall nach 90 Minuten - noch nicht

1. Arithm. Mittel : $\bar{x} = \frac{\sum x}{N}$

2. Streuung : $s^2 = \frac{\sum x^2 - n \bar{x}^2}{N - 1}$

3. Standardabweichung : $s = \sqrt{s^2}$

4. Signifikanz der Differenz der beiden Mittelwerte : bzw. $t_c = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_{Diff}}$

Je nach Freiheitsgrad:

$n = N_1 + N_2 - 2$

a. Über 60 : $s_{Diff} = \sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}$

b. Unter 60 : $t_{Diff} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_{1,2}^2}{N_1} + \frac{s_{1,2}^2}{N_2}}}$

hierbei $s_{1,2}^2$ berechnet nach:

$$\frac{\sum x_1^2 - n_1 \bar{x}_1^2 + \sum x_2^2 - n_2 \bar{x}_2^2}{N_1 + N_2 - 2}$$

die Ausgangsgröße wieder erreicht hatte, obwohl die Hyaluronidasehemmung gesetzmäßig 30 - 60 Minuten nach Adrenalininjektion vorhanden war. - Bei einigen Tieren war eine Hyaluronidasehemmung nach der üblichen Zeit nicht sichtbar bei gleichzeitiger Persistenz der nach Adrenalin eingetretenen Mydriasis. - Bei zwei weiteren Tieren blieb eine Hyaluronidasehemmung aus, obwohl die Pupille wieder kontrahiert war, jedoch zeigten andere Erscheinungen, wie profuser Schweißausbruch, eine Persistenz der sympathischen Reaktionslage bei allerdings in ihrem zeitlichen Ablauf unterschiedlicher Reaktion des vegetativen Tonus der einzelnen Organe.

"Versager"

Nicht in die Auswertung einbezogen wurden die Tiere, bei denen - meist durch einen Fehler der diffizilen Injektionstechnik - ein Rückfluß von Farbstoff stattfand oder eine subkutane Farbstoffausbreitung ein falsches Bild ergaben. Desgleichen fand sich bei einigen wenigen Tieren aus nicht näher bekannten Gründen eine rasche diffuse Ausbreitung der Farbstofflösung, die eine Ablesung und eine Einbeziehung in die gewohnten Ergebnisse unmöglich machte.

Außerdem befinden sich aber unter den ausgewerteten und in den Tabellen und Kurven erfaßten adrenalektomierten Tieren der Adrenalinreihe (30 - 60 Minuten) insgesamt 20 Tiere, die nicht den sonst gewohnten Verhältnissen folgten. Bei der Besprechung der Registrierung der Pupillenweite wurden sie bereits erwähnt. Bei zwei von den Tieren, die bei verlängerter Pupillenerweiterung unter Adrenalin eine ausreichende Hyaluronidasehemmung in der üblichen Zeit vermissen ließen, war die Möglichkeit gegeben, zu einem späteren Zeitpunkt noch eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zu setzen. Hier zeigte sich, daß z.B. nach 70 bzw. 250 Minuten mit der verspäteten Wiederverengerung der Pupille noch eine Hyaluronidasehemmung zustande kam.

Besprechung der Ergebnisse

Unsere Acetylsalicylsäureversuche an hypophysektomierten und adrenalektomierten Ratten haben gezeigt, daß die Nebenniere für eine Hyaluronidasehemmung notwendig, die innersekretorische Aktivität der Nebennierenrinde aber entbehrlich ist. Sie decken

sich also insofern mit den Befunden von D o m e n j o z ¹⁷ u. Mitarb. ^{20, 21} bei der Hemmung des künstlichen Formalinoedems. Weiter wurde festgestellt, daß auch bei totaladrenalektomierten Ratten, bei denen z.B. unter Salicylat eine Hyaluronidasehemmung nicht zustandekommt, das Adrenalin als ein Hormon des Nebennierenmarkes eine statistisch signifikante Hyaluronidasehemmung bewirkt. Daß Adrenalin zu den hyaluronidasehemmenden Substanzen gehört, ist bereits bekannt (C l a r k ¹⁵, H o m b u r g e r ⁴¹, S h u m a n / F i n e s t o n e ⁷⁰, W e r l e u. Mitarb. ⁷⁹, M e i e r - S t a u f f e r ⁵⁷). Bisher wurde aber wohl angenommen, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalin durch die beim Normaltier zweifellos ablaufende Wirkung Adrenalin → Hypophyse → Nebennierenrinde mit Nebennierenrindenhormon-Ausschüttung zu erklären sei. Auch G i b b i a n ²⁶ - wohl der beste Kenner der gesamten Hyaluronidase-Literatur - entnimmt den vorliegenden Publikationen (S h u m a n / F i n e s t o n e ⁷⁰), daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalin über die Nebennierenrinde zustandekommen soll. Unsere Versuchsergebnisse dürften ein Beweis dafür sein, daß die Nebennierenrinde nicht für das Zustandekommen einer Hyaluronidasehemmung notwendig ist, daß aber das Nebennierenmark mit seiner Adrenalinausschüttung unentbehrlich zu sein scheint. Im einzelnen haben wir gezeigt, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalin nicht an den Weg auf die Nebennierenrinde über die Hypophyse gebunden ist.

Ferner haben die Befunde ergeben, daß nicht das Adrenalin selbst, sondern die vegetative, hormonelle und humorale Gegenregulation auf die Adrenalinwirkung den hyaluronidasehemmenden Effekt beinhaltet. Wir finden hier interessante Parallelen zu den verschiedensten Zusammenhängen, die bei Untersuchungen über die Wirkung von Antirheumatica auf vegetative Funktionen aufgezeigt wurden. So decken sich unsere Befunde z. B. mit den klinischen Beobachtungen bes. von F e l l i n g e r / S c h m i d ^{23,24}, J. S c h m i d ⁶⁵, L a c h m a n n ⁴⁸, B i e l i n g ⁹, T ü t s c h ⁷⁷, M o s e r ⁶⁰, die z.B. elektrodermatographisch bzw. mit der Adrenalin - und Pilokarpinelektrophorese bei Moor-, Schwefel-, Sole- und Thermalbädern eine anfängliche deutliche sympathische Reaktionslage feststellten, der dann die therapeutisch genutzte Gegenregulation folgt. Durch Verfolgen der Adre-

nalinwirkung an der Pupillenweite der Ratten konnten wir feststellen, daß die Adrenalinwirkung bereits nach wenigen Minuten abklingt. Die maximale hyaluronidasehemmende Wirkung ca. 30 - 60 Minuten nach Adrenalininjektion (in der Gegenregulationsphase) entspricht den von T ü t s c h ⁷⁷ und M o s e r ⁶⁰ gefundenen Zeiten bei der Anwendung von Sole- und Thermalbädern. Ähnlich wie bei den Moor-, Schwefel- und Solebädern mögen die Verhältnisse zumindest auch bei der Gold- (L e o n h a r t s b e r g e r ⁴⁹) und Kupferbehandlung (K e m p f ⁴⁵), der Therapie mit radioaktiver Strahlung wie niedrigen Röntgen-Dosen oder radonhaltiger Luft und Bädern z.B. in Badgastein oder auch ganz allgemein bei der Reizkörpertherapie liegen.

Die Beobachtung an zwei Tieren mit verspäteter Hyaluronidasehemmung bei gleichzeitig verzögerter Wiederverengung der Pupille scheint die klinischen Ergebnisse zu bestätigen. Bei den anderen "Versagern" ist nicht sicher, in wie weit Störungen im Ablauf der vegetativen Regulationen vorliegen. Wir wissen aber auch aus der Bädertherapie, daß die Fälle von "Badeunverträglichkeiten" eine Persistenz der sympathischen Reaktionslage zeigen und das Einsetzen der Gegenregulation - zumindest in dem gewohnten Ausmaß - vermissen lassen (F e l l i n g e r / S c h m i d ²⁴). Trotzdem sind wir vorläufig nicht berechtigt, die "Versager" mit diesen Argumenten zu erklären, da unter ihnen auch Tiere sind, die sicher auf andere Weise abnorm reagierten. Jedenfalls ist der genannte Gedankengang aber doch für einige Fälle zu diskutieren.

Es wäre nach unseren Befunden die Frage zu stellen, ob die Wirkung zumindest einiger antirheumatischer Behandlungsmethoden durch die Hyaluronidasehemmung als Teileffekt zustandekommt, und ob diese Hyaluronidasehemmung durch einen bisher unbekannten Faktor in der Gegenregulationsphase auf eine Adrenalinausschüttung aus dem Nebennierenmark zustandekommt. Zur Klärung dieser Fragen sind weitere entsprechende umfangreiche Untersuchungen notwendig.

Es ist bei den meisten in der Rheumatherapie angewandten Behandlungsmethoden bekannt, daß sie eine Hyaluronidasehemmung

hervorrufen (M a t h i e s ⁵³), so ACTH 12, 26, 46, 62, 73, Cortison 66, 68, 73, 78, Salicylate 18, 19, 25, 29, 30, 31, 68, 75, Pyrazol- oder Pyrazolonabkömmlinge ¹⁷, Oestrogene ³⁶, 47, 61, 67, 70, 71, 78, Vitamin E ⁵⁹, Echinacea purpurea ¹¹, Roßkastanie ²⁷, 28, 52, Moor- (Huminsäure-) ⁴⁰ und Schwefelbäder ³³, Heparin 2, 6, 8, 32, 55, 56, 64, 75, Glukuronsäure ¹, ⁶³ usw. Es ist Gegenstand weiterer Untersuchungen festzustellen, in welchem Umfang bei den einzelnen Antirheumatica eine Adrenalinausschüttung aus der Nebenniere stattfindet, und in wie weit der hyaluronidasehemmende Effekt aller Antirheumatica an eine Adrenalinausschüttung gebunden ist oder auch ohne eine solche zustandekommt. Auch ist noch nicht für alle Antirheumatica bewiesen, daß sie - wie bei der Acetylsalicylsäure - ohne die Gesamtnebenniere keine Hyaluronidasehemmung hervorzurufen imstande sind. Hierbei bilden natürlich die Cortisone und vielleicht auch andere Körper eine Ausnahme. - Auch muß vorläufig offen bleiben, eine wie große Rolle der Hyaluronidasehemmung - neben der Förderung der kapillären Durchblutung - bei der antirheumatischen Wirkung zukommt. Hier mag auch auf die unterschiedlichen Möglichkeiten der Prüfung des antirheumatischen Effektes hingewiesen werden, wobei D o m e n j o z ¹⁷ zeigen konnte, daß der hemmende Einfluß des gleichen Stoffes auf unterschiedliche Phlogistica nicht in der gleichen Größenordnung zu liegen braucht und die Skala der entzündungshemmenden Stoffe, geordnet nach ihrer Wirksamkeit, bei verschiedenen Phlogistica auch eine andere Reihenfolge haben kann.

Zusammenfassung

Es wurde in entsprechenden Tierversuchen mit einer Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel-Methode gezeigt, daß z.B. Acetylsalicylsäure bei adrenaletomierten Ratten keine Hyaluronidasehemmung hervorruft, obwohl bei hypophysektomierten Tieren - also bei fehlender innersekretorischer Aktivität der Nebennierenrinde durch Ausfall des ACTH - die bei Normaltieren feststellbare Hyaluronidasehemmung durch Acetylsalicylsäure erhalten bleibt. Es wird daraus die Vermutung abgeleitet, daß nicht die Nebennierenrinde sondern das Nebennierenmark für das Zustandekommen

einer Hyaluronidasehemmung notwendig ist. Diese Feststellung wird durch weitere Versuchsergebnisse erhärtet, die gezeigt haben, daß Adrenalin als Hormon des Nebennierenmarkes auch bei adrenaletomierten Tieren eine statistisch signifikante Hyaluronidasehemmung hervorruft. Ferner wird gezeigt, daß nicht das Adrenalin direkt die Hyaluronidasehemmung bedingt, sondern daß diese erst nach Abklingen der Adrenalinwirkung in der Gegenregulationsphase erkennbar wird. Auf Parallelen zu den klinischen Erfahrungen auf dem Gebiet der Rheumatherapie z.B. bei der Bäderwirkung wird hingewiesen. Es werden die weiteren Fragen diskutiert, die sich aus den aufgezeigten Befunden ergeben, wobei besonders das Problem der Rheumatherapie berücksichtigt wird.

Literaturverzeichnis

- 1 Abul-Hadj, S.K. u. Mitarb.: Science 114 (1951), 237
- 2 Alburn, H.E.: Fed. Proc. 8 (1949), 5
- 3 Arnesen, K. u. Mitarb.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.
71 (1949), 264
- 4 Bacharach, A.L. u. Mitarb.: Biochem. J. 34 (1940), 1464
- 5 Bachmann, R.: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des
Menschen VI/5 (1954), 222 ff., Springer
Berlin /Göttingen /Heidelberg
- 6 Bally, P.R.: Zschr. f. klin. Med. 148 (1951), 295
- 7 Behring, O.v.: Z. Immunforsch. 100 (1941), 1
- 8 Bergamini: Boll. Ist. sieroter. milan. 27 (1948), 115
- 9 Bieling: D. biol. Infektionsabwehr d. menschl. Körpers,
Deuticke, Wien 1944
- 10 Birkner, R. /Trautmann, J.: Ärztl. Wschr. 10 (1955), 73
- 11 Büsing, K.-H.: Arzneimittelforsch. 2 (1952), 467
- 12 Bywaters, E.G.L. /Dixon, A.H.: zit. Giggelberger, H.: Dtsch.
med. Wschr. 78 (1953), 1439
- 13 Canalis, P.: Intern. Mschr. Anat. 4 (1887a), 312: zit.
Bachmann (5)
- 14 Cauwenberge, H. van /Heusghem, C.: Lancet 260 (1951), 771
- 15 Clark, W.G.: Exp. Med. Surg. 7 (1949), 78
- 16 Dewes, R.: Arch. int. pharmacodyn. CIV (1955), Nr. 1
- 17 Domenjoz, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 225 (1955), 14
- 18 Dorfman, A. u. Mitarb.: Amer. J. Dis. Child 77 (1949), 106
- 19 Dry / Butt: Proc. Staff. Met. Mayo Clin. 21 (1946), 26
- 20 Fehres u. Mitarb.: zit. Domenjoz (17)
- 21 Fehres /Theobald: zit. Domenjoz (17)
- 22 Fellingner, K. /Schmid, J.: Österr. Ärztekongreß der Van Swie-
ten-Ges. Salzburg 7.-9.Sept. 1953
- 23 Fellingner, K. /Schmid, J.: Med. Klin. 48 (1953), 949
- 24 Fellingner, K. /Schmid, J.: Münch. med. Wschr. 97 (1955), 524
- 25 Forrest u. Mitarb.: J. Pharmacy Pharmacol. 4 (1952), 231
- 26 Gibian, H.: Erg. d. Enzymforsch. 13 (1954), 1
- 27 Giggelberger, H.: Dtsch. med. Wschr. 78 (1953), 1439
- 28 Giggelberger, H. /Kleibel, F.: Klin. Wschr. (1953), 475
- 29 Guerra, F.: Science 103 (1946), 696
- 30 Guerra, F.: J. of Pharmacol. 87 (1946), 193
- 31 Guerra, F.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 87 (1946), 3

- 32 Hadidan /Pirie: Biochem. J. 42 (1948), 266
- 33 Hartmann /Grüne: zit. Evers: Ärztl. Fortb. (1954), 73
- 34 Hechter, O.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 52 (1950), 1028
- 35 Heilmeyer, L. u. Mitarb.: Dtsch. med. Wschr. 75 (1950), 1124
- 36 Heim, E.: Fortpfl., Zuchthygiene u. Haustierbesam. 4 (1954), 5
- 37 Herlant: zit. Jöchle, W.: Endokrinologie 33 (1955), 63
- 38 Hiller, E.: Med. Mschr. (1952), 154
- 39 Hiller, E.: Dtsch. med. Wschr. 77 (1952), 856
- 40 Hiller, E.: zit. Kowarschik, J.: Internat. Moorkongreß Okt.
1954 Meran
- 41 Homburger, F.: Yale J. Biol. a. Med. 17 (1944/45), 479
- 42 Humphrey, J.H.: Biochemic. J. 37 (1943), 177
- 43 Karg, H.: Hoppe-Seyler's Zschr. f. physiol. Chem. 304 (1956), 148
- 44 Karg, H.: persönliche Mitteilung
- 45 Kempf, W.: Med. Welt 20 (1951), 1318
- 46 Kleinsorge, H./ Pohl, W.: Medizinische (1952), 1463
- 47 Koch, W.: Monatsh. f. Tierheilk. 5 (1953), 28
- 48 Lachmann, H.: Heilkunst (1954), 1
- 49 Leonhartsberger, F.: Münch. med. Wschr. 96 (1954), 987 u. 1039
- 50 Madinaveitia, J.: Biochemic. J. 32 (1938), 1806
- 51 Madinaveitia, J.: Biochemic. J. 33 (1939), 347
- 52 Mathies, H.: Planta medica 2 (1954) 129 u. 148
- 53 Mathies, H.: Fortschr. d. Med. 74 (1956), 35
- 54 Mathies, H.: Pharmazie 12 (1957), 1
- 55 McLean, D.J.: J. Path. Bact. 54 (1942), 284
- 56 McLean, D.J. /Hale: Biochem. J. 35 (1941), 159
- 57 Meier-Stauffner, G.: Wien. klin. Wschr. 67 (1955), 35
- 58 Meyer, K. u. Mitarb.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 44
(1940), 294
- 59 Miller / Dessert: zit. Beckmann, R. /Kuhlmann, F.: Münch.
med. Wschr. 96 (1954), 970
- 60 Moser, R.: Diss. 1947 Zürich
- 61 Obal, A.: Ärztl. Wschr. (1950), 804
- 62 Opsahl, J.C. u. Mitarb.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52 (1950), 1141
- 63 Rinehart, J.F./Greenberg, L.D.: Arch. Path. 51 (1951), 12
- 64 Rogers, H.J.: Biochem. J. 40 (1946), 583
- 65 Schmid, J.: Med. Klin. 48 (1953), 849
- 66 Schmidt, H. u. Mitarb.: Dtsch. med. Wschr. 75 (1950), 790
- 67 Schoen, R.: 9. Fortb. Kurs f. Ärzte Regensburg Okt. 1952

- 68 Schoen, R. Ärtzl. Fortb. (1954), 1
69 Selye, H.: Nature 168 (1951), 149
70 Shuman, C.M., Fineston, A.J.: J. exper. Biol. Med. 73 (1950), 248
71 Sprunt, D.H. u. Mitarb.: J. exper. Med. 67 (1938), 159
72 Sprunt, D.H.: Amer. Rev. Tuberc. 59 (1949), 185
73 Stepantschitz, G. /Kresbach, E.: Zschr. f. Rheumaforsch.
13 (1954), 266
74 Stötter, G.: Ärtzl. Fortb. (1954), 81
75 Swyer: Biochem. J. 42 (1948), 32
76 Theobald, W.: Diss. Univ. d. Saarlandes 1954
77 Tütsch, D.: Diss Zürich 1952
78 Wattenberg, W./ Glick, D.: J. biol. Chem. 179 (1949), 1213
79 Werle, E. u. Mitarb.: Biochem. Zschr. 319 (1949), 337
80 Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz (17)

Abschließend möchte ich Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas, Herrn Dr. H. Mathies für die Anregungen zu dieser Arbeit und die Ratschläge für ihre Gestaltung, Herrn Dr. H. Karg für die Beratung und Einarbeitung in Teilgebiete der Methodik, Herrn Dr. L. Schreiner für die histologischen Kontrollen des Hypophysektomieerfolges und Herrn Dr. H. Baitsch für die Beratung in der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse danken.

Lebenslauf.

Ich wurde am 23. 6. 1920 in Fischingen /Hohenz. geboren, besuchte in Klausberg und Witten die Volksschule, danach das Realgymnasium in Witten und bestand Ostern 1939 die Reifeprüfung.

Nach halbjähriger Arbeitsdienstzeit begann ich 1940 mein Medizinstudium in Münster /Westf.. Das Studium wurde fünf Jahre durch Wehrdienst und Kriegsgefangenschaft unterbrochen, 1946 in München fortgesetzt und 1949 beendet.

1949 - 1952 war ich im Städt. Krankenhaus Neu-Ulm, 1953 im Kreiskrankenhaus Marbach /N., 1954 - 1955 in der Städt. Frauenklinik Ulm und 1955 - 1956 im Kreiskrankenhaus Haag /Obb. tätig.

Seit Herbst 1956 war ich an der Med. Poliklinik München mit der Bearbeitung meines Promotionsthemas beschäftigt.

Ich bin verheiratet, katholisch und habe ein Kind.

